

氏名	松田 翔悟
(ふりがな)	まつだ しょうご
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲 第1177号
学位審査年月日	令和3年1月13日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題名	Exploration of pathomechanism using comprehensive analysis of serum cytokines in polymyositis/dermatomyositis-interstitial lung disease (血清サイトカインの網羅的解析を用いた多発性筋炎/皮膚筋炎合併間質性肺炎の病態検討)
論文審査委員	(主) 教授 森脇 真一 教授 矢野 貴人 教授 高井 真司

学位論文内容の要旨

《目的》

多発性筋炎 (PM) /皮膚筋炎 (DM) は間質性肺炎 (ILD) を高頻度に合併する。ILD は致死的な臓器病変であり、合併する ILD の病態には、疾患特異的自己抗体〔抗 MDA5 抗体、抗アミノアシル tRNA 合成酵素 (ARS) 抗体〕が関連している。特に、抗 MDA5 抗体陽性例は免疫抑制療法に不応で予後不良であり、早期に診断しより強力な治療を行うことが推奨されている。近年、PM/DM-ILD 症例において、活性化マクロファージ、Th1 細胞、好中球が産生する炎症性サイトカインが予後と関連することが報告されている。しかし、PM/DM-ILD のサイトカインプロファイルの全体像は明らかでない。今回我々は、PM/DM-ILD 症例において血清サイトカインを網羅的に測定し、病態との関連を検討した。

また、PM/DM-ILD の疾患活動性や予後不良に関連するバイオマーカーについて検討した。

《対象と方法》

2011年2月から2016年6月までに大阪医科大学附属病院に入院した40症例を対象とした。BohanとPeter、SontheimerとGeramiの基準を用いて、PM、DM、筋無症候性皮膚筋炎(CADM)に分類した。研究はヘルシンキ宣言に則り、大阪医科大学倫理委員会(承認番号1316、1366)の承認を得て行われた。インフォームドコンセントを各患者から取得した。ILDの診断には胸部HRCTを用いた。急性/亜急性型ILDは3ヶ月以内の経過で呼吸状態、血液検査所見、動脈血液ガス所見、胸部CT画像所見、呼吸機能検査所見が悪化したILDと定義した。疾患活動性の評価には、血清パラメーター〔クレアチニンキナーゼ、アルドラーゼ、乳酸脱水素酵素(LDH)、CRP、KL-6、フェリチン、抗MDA5抗体、抗ARS抗体〕、動脈血液ガス検査所見(肺泡気動脈血酸素分圧較差: AaDO₂)、呼吸機能検査所見、胸部HRCT画像所見、筋炎活動指標(MITAX)、治療内容、予後を診療録より抽出して使用した。また、胸部HRCT画像を用いて、肺野におけるすりガラス陰影(GGO)と線維化の範囲を半定量的に算定した。血清サイトカイン測定に関してはフローサイトメーターによるタンパクの多項目同時定量解析〔cytometric bead array method: (LXSAHM-16 R&D Human Luminex Screening Assay, Minneapolis, MN, USA)〕を用いて16種類の血清サイトカインを測定した。多くの症例で検出限界値以下であった6種類のサイトカインは解析から除外した。治療前、治療開始2週間後、4週間後の血清を用いて、血清サイトカイン値の経時的推移も検討した。得られた値は中央値(範囲)で表記した。*P*値は0.05以下を有意差ありとした。10種類の治療前血清サイトカインを少ない指標に要約し検討するために、主成分分析(PCA)を用いた。

《結果》

40人のPM/DM-ILD患者の内、急性/亜急性型ILDは32例、慢性型ILDは8例であった。10例はILD増悪による呼吸不全で死亡し、内7例は12週以内の死亡であった。生存

群 30 例と ILD による死亡群 10 例の患者背景を比較した結果、死亡群では MITAX、血清フェリチン値、抗 MDA5 抗体陽性率、右中葉 GGO スコア、AaDO₂ が有意に高値であった (P = <0.0001、0.0008、0.0002、0.013、0.0004)。

血清サイトカインを用いて 40 人の患者のクラスター解析を行ったところ、サイトカイン値の高低で 2 つのグループに分けられた。ILD による死亡例の 9 割は血清サイトカイン高値群に含まれていた。

PCA により 10 種類のサイトカインを分類したところ、グループ 1: 好中球、M1 マクロファージ産生サイトカイン (IL-6、IL-8、IL-18、CCL2、TNF-α、CXCL10)、グループ 2: Th1 産生サイトカイン (IL-2、CXCL11)、M2 マクロファージ誘導サイトカイン (M-CSF)、グループ 3: M2 マクロファージ産生サイトカイン (IL-10) に分類された。

PCA で分類されたグループ 1 と 2 のサイトカインは、PM/DM-ILD の予後不良因子 (血清フェリチン値、AaDO₂、右中葉 GGO スコア) 全てと有意な正の相関を示した。

ILD による死亡群と生存群における治療前、治療開始 2 週間後、4 週間後の血清サイトカイン値を比較した結果、全ての時点で血清 IL-6、CXCL10 が死亡群で有意に高値であった。血清 IL-6、CXCL10 高値群は、低値群と比較して、24 週間後の生存率が有意に低かった (P = 0.007、0.002)。

《考 察》

今回我々は、Th1 産生サイトカイン (IL-2、CXCL11) と M2 マクロファージ誘導サイトカイン (M-CSF) が PM/DM-ILD の病態に関連していることを明らかにした。

本研究で得られた血清サイトカインプロファイルに基づき、PM/DM-ILD の病態仮説を以下のように提唱する。単球と Th1 細胞の活性化により、Th1 産生サイトカイン (IL-2、CXCL11) の発現が亢進し、M1 マクロファージの分化が促される。その結果、M1 マクロファージから IL-6、IL-8、IL-18、CCL2、TNF-α、CXCL10 が産生される。この内、IL-8 と IL-18 が好中球の活性化に寄与する。これらの炎症性反応を抑制するために、M-CSF が単球から M2 マクロファージへの分化を促進する結果、M2 マクロファージからの IL-10

産生が亢進すると考えられた。

グループ 1 に属する血清 IL-6、CXCL10 値は、PM/DM-ILD の予後不良因子と相関を認め、また、生存群と比較して死亡群で治療前や臨床経過中に有意に高値を示すため、予後予測に有用なバイオマーカーになり得る可能性があると考えられた。

《結 論》

PM/DM-ILD 患者の血清サイトカインの網羅的解析により、活性化した Th1 細胞、M2 マクロファージが病態に関連していることを明らかにした。M1 マクロファージの産生する IL-6、CXCL10 は PM/DM-ILD の予後予測に有用なバイオマーカーになり得る可能性があると考えられた。

論文審査結果の要旨

多発性筋炎 (PM)/皮膚筋炎 (DM) は間質性肺炎 (ILD) を高頻度に合併する。PM/DM-ILD は致死的な臓器病変であり、合併する ILD の病態には抗 MDA5 抗体と抗アミノアシル tRNA 合成酵素 (ARS) 抗体が関連している。特に、抗 MDA5 抗体陽性例は免疫抑制療法に不応で予後不良であり、予後を予測するバイオマーカーの開発が推奨されている。近年、PM/DM-ILD 症例において、活性化マクロファージ、Th1 細胞、好中球が産生する炎症性サイトカインが予後と関連することが報告されている。しかし、PM/DM-ILD のサイトカインプロファイルの全体像は明らかでない。今回我々は、PM/DM-ILD 症例において血清サイトカインを網羅的に測定し、少ない指標に要約分類する手法を用いて病態を検討した。また、疾患活動性や予後不良に関連するバイオマーカーについて検討した。

観察期間中 40 人の内、10 人は ILD 増悪による呼吸不全で死亡し、内 7 例は 12 週以内の死亡であった。血清サイトカインを用いてクラスター解析を行ったところ、サイトカイン値の高低で 2 つのグループに分けられた。ILD による死亡例の 9 割は血清サイトカイン高値群に含まれていた。主成分分析により、10 種類のサイトカインは 3 つのグループ (グループ 1: 好中球、M1 マクロファージ産生サイトカイン、グループ 2: Th1 産生サイトカイン、M2 マクロファージ誘導サイトカイン、グループ 3: M2 マクロファージ産生サイトカイン) に分類された。グループ 1 と 2 が血清中の予後不良因子と相関した。更に、グループ 1 に属する血清 IL-6、CXCL10 値は、生存群と比較して ILD による死亡群で治療前や臨床経過中に有意に高値を示すため、予後予測に有用なバイオマーカーになり得る可能性があると考えられた。

本研究は、難治性病態である PM/DM-ILD において、病勢と予後を予測するバイオマーカーと病因となる炎症細胞を明らかにしたことで、新規治療の創造につながる可能性を示した。

以上により、本論文は本学大学院学則第 11 条第 1 項に定めるところの博士 (医学) の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)

Rheumatology 59(2): 310-318, 2020 Feb

doi: 10.1093/rheumatology/kez301.